

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-026426

(43)Date of publication of application : 28.01.1997

(51)Int.Cl.

G01N 35/02
G01N 21/77

(21)Application number : 07-176101

(71)Applicant : HAMAMATSU PHOTONICS KK
NIKON CORP
N V C:KK

(22)Date of filing : 12.07.1995

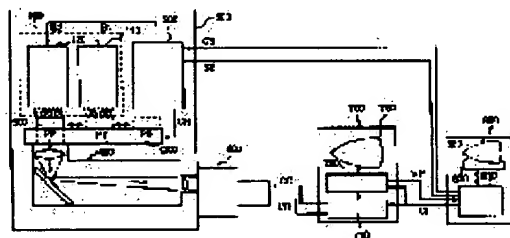
(72)Inventor : MIZUGUCHI YOSHINORI
SUGIYAMA HIROSHI
OHASHI YOSHITAKA
IIDA YOSHIMI

(54) PHOTOMETER

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a photometer capable of rapidly measuring a light emission even if it occurs in a short time.

SOLUTION: Dispensers 110, 120 batch-dispense reagent to each well of a microplate 900 held at the dispensing positions P1, P2 in a camera obscura 500. As a result of the dispensing, the light emission of the dispensing position P2 occurs by the mutual action of the sample and the reagent in each well. Since the bottom of the well of the microplate 900 is formed out of a light transmissible member, the part of the light emission due to the luminescence is emitted to the bottom side of the plate 900. Thus, the light emitted to the bottom side is input to an optical system 400, the image observed from the bottom side of the plate 900 is focused on the photoreceiving surface of an imaging unit 600 by the system 400, and picked up. The image-picking up result is processed to simultaneously conduct the measurement of the light generated by the mutual action of the multiple samples and the reagent for each well of the plate 900.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 18.02.2002

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 04.06.2003

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-26426

(43) 公開日 平成9年(1997)1月28日

(51) Int.Cl.⁹

G 0 1 N 35/02
21/77

識別記号

庁内整理番号

F I

G 0 1 N 35/02
21/77

技術表示箇所

Z
B

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平7-176101

(22) 出願日 平成7年(1995)7月12日

(71) 出願人 000236436

浜松ホトニクス株式会社
静岡県浜松市市野町1126番地の1

(71) 出願人 000004112

株式会社ニコン
東京都千代田区丸の内3丁目2番3号

(71) 出願人 595100026

株式会社エヌ・ピー・シー
東京都杉並区荻窪4丁目32番3号-301

(72) 発明者 水口 義則

静岡県浜松市市野町1126番地の1 浜松ホ
トニクス株式会社内

(74) 代理人 弁理士 長谷川 芳樹 (外3名)

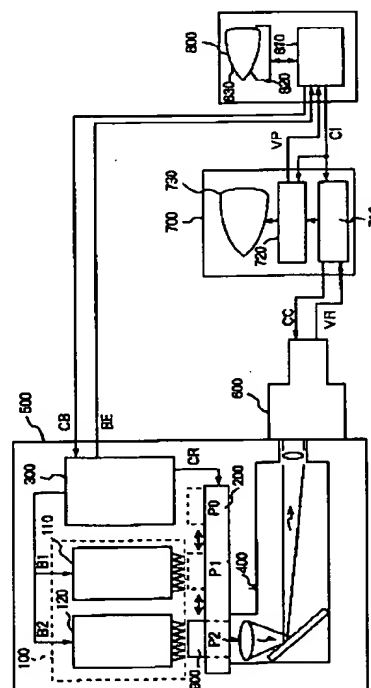
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光測定装置

(57) 【要約】

【目的】 発光が短時間に起こる場合であっても迅速に測定ができる光測定装置を提供する。

【構成】 暗箱500内の分注位置P1、P2に保持されたマイクロプレートの各ウエルに対して、分注器110、120が試薬の一括分注を行う。分注結果、各ウエル内のサンプルと試薬との相互作用によって分注位置P2発光が起きる。マイクロプレート900のウエルの底面が光透過部材からなるので、発光現象による光の一部はマイクロプレートの底面側に出射される。こうして底面側に出射された光は光学系400に入力し、光学系によってマイクロプレートの底面側から見た像が、撮像器600の受光面上に結像され、撮像される。この撮像結果を処理することにより、多サンプルと試薬との相互作用によって発生する光の測定がマイクロプレート900の各ウエルについて一挙に行われる。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 測定対象物が投入されたマイクロプレートのウエルに試薬を注入し、前記測定対象物と前記試薬との相互作用によって発生する光を測定する光測定装置であって、

前記マイクロプレートのウエルの底面が光透過部材からなるとともに、

前記光測定装置は、

所定位置で保持された前記マイクロプレートの各ウエルに同時に前記試薬を分注する分注手段と、

前記所定位置での前記マイクロプレートの底面側から見た前記マイクロプレートの像を結像する光学系と、

前記マイクロプレート、前記分注手段、および前記光学系を収納するとともに、遮光部材から成る暗箱と、

前記光学系の結像面に受光面を有し、前記マイクロプレートの底面側から見た像を撮像する撮像手段と、

を備えることを特徴とする光測定装置。

【請求項 2】 前記試薬の種類は 1 種類であり、前記分注手段は 1 つの一括分注器を備えるとともに、前記暗箱内に設置された、前記マイクロプレートを初期設置位置から前記一括分注器に応じた分注位置に移動させる搬送手段を更に備える、ことを特徴とする請求項 1 記載の光測定装置。

【請求項 3】 前記試薬の種類は複数種類であり、前記分注手段は前記試薬の種類の数と同数の一括分注器を備えるとともに、前記マイクロプレートを初期設置位置から夫々の前記一括分注器に応じた分注位置に順次移動させる搬送手段を更に備える、ことを特徴とする請求項 1 記載の光測定装置。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】 本発明は、マイクロプレートを使用した多サンプルの発光測定技術に属する。

【0002】

【従来の技術】 複数（例えば 96 個）のウエルを有するマイクロプレートを使用し、各ウエルにサンプルを投与後に試薬を注入して、サンプルと試薬との相互作用で発生する光を測定する装置が多用されている。こうした装置は、同時に光測定するサンプル数の観点から、個別サンプル測定装置と多サンプル同時測定装置とに区別される。

【0003】 図 4 は、例えば、Berthold 社製の光測定装置 LB96P を代表とする従来の個別サンプル測定装置（以後、従来例 1 とも呼ぶ）の典型的な構成図である。

【0004】 この光測定装置は、以下のようにしてサンプルから発光を測定する。

【0005】 まず、各ウエルにサンプルが投入されたマイクロプレート 990 を搬送器 910 上に搭載する。そして、処理部 940 で、入力装置 942 を介して処理装

置 941 に測定開始が指示される。

【0006】 測定開始が指示されると、処理装置 941 は、マイクロプレート搬送器 910 にマイクロプレート 990 の最初の測定ウエルの分注位置への移動を指示する。指示を受けたマイクロプレート搬送器 910 は、マイクロプレート 990 の最初の測定ウエルを分注位置へ移動する。

【0007】 次に、処理装置 941 は、分注器 920 に分注動作の指示をする。指示を受けた分注器 920 は、モータ 922 を動作させ、試薬容器 921 内の試薬 929 を管 923 を介して吸入した後、管 924 を介して分注する。

【0008】 試薬が分注されたウエル内のサンプルと試薬との相互作用の結果として光が発生する。光検出器 930 は、こうして発生した光を受光し、光検出信号を出力する。処理装置 941 は、光検出信号を収集する。こうして、マイクロプレート 990 の最初の測定ウエルの分注位置のサンプルの測定を完了する。

【0009】 次に、処理装置 941 は、順次測定ウエルの分注位置への移動をマイクロプレート搬送器 910 へ指示し、移動後に分注動作を分注器 920 へ指示し、各ウエルで発生し光検出器 930 で検出した光に関する光検出信号を都度収集する。

【0010】 こうして、収集がマイクロプレート 990 の全ウエルについて終了すると、処理装置 941 は収集データを処理し、処理結果を表示装置 943 に表示する。

【0011】 図 5 は、例えば、浜松ホトニクス社製の光測定装置 ARGUS 50/MP と自動分注器とを組合わせた構成を代表とする従来の多サンプル同時測定装置（以後、従来例 2 とも呼ぶ）の典型的な構成図である。

【0012】 この光測定装置は、以下のようにしてサンプルから発光を測定する。

【0013】 まず、各ウエルにサンプルが投入されたマイクロプレート 990 を暗箱 960 内に設置する。そして、処理部 950 で、入力装置 954 を介して処理装置 953 に測定開始が指示される。

【0014】 測定開始が指示されると、処理装置 953 は、自動分注器 925 に分注動作を指示する。指示を受けた自動分注器 925 は、試薬容器 928 内の試薬を吸入後、マイクロプレート 990 の上部へ移動して、マイクロプレート 990 の各ウエルに一括分注を行う。一括分注の後、自動分注器 925 は、マイクロプレート 990 の上部から移動する。

【0015】 試薬が分注された各ウエル内のサンプルと試薬との相互作用の結果として光が発生する。光学系 936 は、各ウエルで発生した光を受光し、上部から見たマイクロプレート 990 の像を超高感度のビデオカメラ 935 の撮像面に結像する。ビデオカメラ 935 は、撮像面に結像された像を撮像し、撮像信号を処理部 950

へ向けて出力する。処理部 950 は、カメラインターフェース 951 を介して画像処理装置 952 に入力して画像処理を施す。画像処理信号は処理装置 953 に通知されて処理され、処理結果が表示装置 955 に表示される。

【0016】

【発明が解決しようとする課題】従来の光測定装置は上記のように構成されるので、以下の様な問題点があった。

【0017】従来例 1 の装置では、マイクロプレートの 1 ウェルごとに分注および発光測定を順次繰り返すので、多サンプルについての測定では時間がかかり、迅速な測定という点で問題がある。

【0018】また、従来例 2 の装置では、分注時には、自動分注器がビデオカメラの撮像面とマイクロプレートとの間に位置することになるので、自動分注器を移動した後にしか撮像動作を実行できないので、試薬分注後、短時間で発光する場合には適用ができない。

【0019】本発明は、上記を鑑みてなされたものであり、発光が短時間に起こる場合であっても迅速に測定ができる光測定装置を提供することを目的とする。

【0020】

【課題を解決するための手段】本発明の光測定装置は、測定対象物が投入されたマイクロプレートのウェルに試薬を注入し、測定対象物と試薬との相互作用によって発生する光を測定する光測定装置であって、マイクロプレートのウェルの底面が光透過部材からなるとともに、光測定装置は、(a) 所定位置で保持されたマイクロプレートの各ウェルに同時に試薬を分注する分注手段と、(b) 所定位置でのマイクロプレートの底面側から見たマイクロプレートの像を結像する光学系と、(c) マイクロプレート、分注手段、および光学系を収納するとともに、遮光部材から成る暗箱と、(d) 光学系の結像面に受光面を有し、マイクロプレートの底面側から見た像を撮像する撮像手段とを備える。

【0021】ここで、試薬の種類は 1 種類または複数種類であり、分注手段は試薬の種類の数と同数の一括分注器を備えるとともに、マイクロプレートを初期設置位置から夫々の一括分注器に応じた分注位置に順次移動させる搬送手段を更に備えることを特徴としてもよい。

【0022】本発明の光測定装置では、暗箱内の所定位置に保持されたマイクロプレートの各ウェルに対して、分注手段が同時に試薬の一括分注を行う。分注結果、各ウェル内のサンプルと試薬との相互作用によって発光が起きる。

【0023】マイクロプレートのウェルの底面が光透過部材からなるので、発光現象による光の一部はマイクロプレートの底面側に出射される。こうして底面側に出射された光は光学系に入力し、光学系によってマイクロプレートの底面側から見た像が、撮像手段の受光面上に結

像される。こうして結像された像が撮像手段によって撮像される。この撮像結果を処理することにより、多サンプルと試薬との相互作用によって発生する光の測定がマイクロプレートの各ウェルについて一挙に行われる。

【0024】また、本発明の光測定装置では、底面側に出射する光を測定するので、上面側から分注を行う分注手段の移動無しに光測定が可能である。

【0025】また、一括分注器を試薬の種類数と同数設置し、搬送手段が夫々の一括分注器に応じた分注位置に順次マイクロプレートを移動し、都度試薬の分注を行い、発光が発生する所定位置で光測定を行うことが可能である。この結果、効率的に光測定が行われる。

【0026】

【発明の実施の態様】以下、添付図面を参照して本発明の光測定装置の実施の態様を説明する。なお、図面の説明にあたって同一の要素には同一の符号を付し、重複する説明を省略する。以下の本発明の実施の態様の説明にあたっては、2 液（試薬名を御教示下さい）分注を行う HPA (Hybridization Protection Assay) 法を例にとって説明を行う。

【0027】図 1 は、本発明の実施態様に係る光測定装置の構成図である。この装置では、底面が光透過部材からなるマイクロプレート 900 を使用する。図 1 に示すように、この装置は、(a) 分注指示信号 B1 に従って、マイクロプレート 900 の各ウェルに第 1 試薬を同時に一括分注する自動試薬分注器 110 と、分注指示信号 B2 に従って、マイクロプレート 900 の各ウェルに第 2 試薬を同時に一括分注する自動試薬分注器 120 とを備える分注部 100 と、(b) マイクロプレート 900 を搭載し、搬送指示信号 CR に従って初期位置 P0、自動分注器 110 に応じた分注位置 P1、および自動分注器 120 に応じた分注位置 P2 にマイクロプレート 900 を移動する搬送器 200 と、(c) 分注制御信号 CB を受け、解釈して分注指示信号 B1、B2、および搬送指示信号 CR を出力する分注制御部 300 と、(d) 分注位置 P2 で、マイクロプレート 900 の各ウェル内のサンプルと試薬との相互作用の結果として発生し、マイクロプレート 900 の底面側に出射された光を受光し、マイクロプレート 900 の底面側から見た像を結像する光学系 400 と、(e) 分注部 100、搬送器 200、分注制御部 300、および光学系 400 を収納する暗箱 500 と、(f) 光学系 400 の結像面に受光面を有し、受光面上の像を撮像する超高感度のビデオカメラ 600 と、(g) ビデオカメラ 600 へ向けて撮像制御信号 CC を出力するとともに、ビデオカメラ 600 から出力された撮像信号 VR を入力し、画像処理を施す画像処理部 700 と、(h) 分注制御部 300 へ向けて分注制御信号 CB を出力し、画像処理部 700 へ向けて画像処理指示信号 CI を出力するとともに、画像処理部 700 が出力する画像処理信号 VP を入力して処理する処理

部 800 とを備える。

【0028】図 2 は、自動分注器 110 の構成図である。なお、自動分注器 120 も同様に構成される。図 2 に示すように、自動分注器 110 は、①分注部 111 と、②分注指示信号 B1 に応じて、分注部 111 を上下に駆動するステッピングモータ 112 と、③分注指示信号 B1 に応じて、第 1 試薬の吸引、排出の駆動を行うステッピングモータ 113 とを備える。

【0029】図 3 は、分注制御部 300 の構成図である。図 3 に示すように、分注制御部 300 は、①処理部 800 から通知された分注指示信号 CB を入力し、解読／解釈する制御回路 310 と、②制御回路 310 からの指示に従って、分注指示信号 B1 を出力するステッピングモータ駆動回路 320 と、③制御回路 310 からの指示に従って、分注指示信号 B2 を出力するステッピングモータ駆動回路 330 と、④制御回路 310 からの指示に従って、搬送指示信号 CR を出力するステッピングモータ駆動回路 340 とを備える。

【0030】画像処理部 700 は、①処理部 800 からの画像処理指示信号 CI に応じて、ビデオカメラ 600 へカメラ制御指示信号 CC を出力するとともに、ビデオカメラ 600 から出力された撮像信号 VR を入力するカメラ制御装置 710 と、②カメラ制御装置 710 から出力された画像信号を入力し、処理部 800 からの画像処理指示信号 CI に応じて画像処理を実行する画像処理装置 720 と、③画像処理装置 720 で処理された画像を表示する画像表示装置 730 とを備える。

【0031】処理部 800 は、①分注制御部 300 へ向けて分注制御信号 CB を出力し、画像処理部 700 へ向けて画像処理指示信号 CI を出力するとともに、画像処理部 700 が出力する画像処理信号 VP を入力して処理する処理装置 810 と、②処理装置 810 への動作指示を入力する入力装置 820 と、③処理装置 810 での処理結果などを表示する表示装置 830 とを備える。

【0032】この装置は、以下のようにして光測定を実行する。

【0033】まず、マイクロプレート 900 の各ウエル内に測定対象であるサンプルを用意する。クラス II 抗原の詳細を調べる HPA 法では、例えば、白血球中のクラス II 抗原に関係する DNA を RNA として増幅し、マイクロプレート 900 上にコーティングした各種 HLA 抗原にハイブリダイズさせる。

【0034】こうして用意したマイクロプレート 900 を暗箱 500 の内の初期位置 P0 に設置する。分注制御装置 300 は、初期位置 P0 にマイクロプレート 900 が設置されると、マイクロプレート 900 を自動分注器 110 に応じた分注位置へ移動させる。

【0035】この状態で、入力装置 820 から処理装置 810 に測定開始指示がなされると、処理装置 810 から分注制御信号 CB が分注制御装置 300 へ通知され

る。分注制御装置 300 は、分注制御信号 CB を受けると、分注制御信号 CB に従って、まず、分注指示信号 B1 を自動分注器 110 へ出力する。自動分注器 110 は、分注指示信号 B1 に応じて、予め設定された量の第 1 試薬を同時に一括して自動分注する。

【0036】自動分注器 110 での分注が完了すると、分注制御装置 300 は搬送指示信号 CR を出力し、マイクロプレート 900 を自動分注器 120 に応じた分注位置への移動を搬送装置 200 へ指示する。搬送装置 200 は、搬送指示信号 CR に従って、マイクロプレート 900 を自動分注器 120 に応じた分注位置へ搬送する。この後、分注制御装置 300 は、分注指示信号 B2 を自動分注器 120 へ出力する。自動分注器 120 は、分注指示信号 B2 に応じて、予め設定された量の第 1 試薬を同時に一括して自動分注する。分注が完了すると、分注制御装置 300 は、処理装置 810 へ分注完了信号 BE を通知する。

【0037】分注が完了すると、マイクロプレート 900 の各ウエル内でサンプルと試薬とが相互作用し光が発生する。こうして発生した光の一部は、マイクロプレート 900 の底面を介して、マイクロプレート 900 の底面側に出射される。マイクロプレート 900 の底面側に出射された光は光学系 400 に入力し、マイクロプレート 900 の底面側から見た像がビデオカメラ 600 の受光面に結像される。

【0038】一方、分注動作が完了し、分注完了信号 BE が通知されると、処理装置 810 は、発光時間を見計らって画像処理指示信号 CI を出力し、カメラ制御装置 710 を介してビデオカメラ 600 にカメラ制御指示 CC を出力し、撮像動作を指示する。分注位置 P2 のマイクロプレート 900 と光学系 400 の間には介在物が存在しないので、分注直後から撮像動作が可能である。撮像動作を指示されたビデオカメラ 600 は、受光面に結像された像を撮像し、撮像信号 VR を出力する。

【0039】撮像信号 VR はカメラ制御装置 710 に入力し、カメラ制御装置 710 から出力された画像信号が画像処理装置 820 に入力する。画像処理装置 820 は、入力した画像信号に基づいて画像処理を行い、画像処理結果を画像表示装置 830 に白黒または疑似カラーで表示するとともに、処理装置 810 へ通知する。処理装置 810 は画像処理結果を定量解析し、その結果を格納するとともに表示装置 830 に表示する。

【0040】以上のようにして、1つのマイクロプレート 900 についての発光測定を完了すると、処理装置 810 は分注制御装置 300 にマイクロプレート 900 の初期位置への移動を指示する。この指示を受けると、分注制御装置 300 は搬送指示信号 CR を搬送装置 200 へ通知する。そして、搬送装置 200 は、分注位置 P2 から初期位置 P0 へマイクロプレートを搬送する。この後、マイクロプレート 900 を暗箱 500 から取り出し

て、測定作業が終了する。

【0041】 こうして、マイクロプレート900に投入された多サンプルについての発光測定を迅速に実施する。

【0042】 本発明は、上記の実施態様に限定されるものではなく変形が可能である。例えば、上記の実施態様では、自動分注器を2つ使用したが、測定に必要な試薬の数に合わせて、自動分注器の数を1個にしたり3個以上とした場合においても、上記の実施形態と同様にして、試薬分注から発光までの時間が短時間の光測定についても迅速に実施することが可能である。

【0043】

【発明の効果】 以上、詳細に説明した通り、本発明の光測定装置によれば、ウエルの底面が光透過部材からなるマイクロプレートを使用するとともに、各ウェルに試薬を同時一括分注し、マイクロプレートの底面側に出射される光の像をビデオカメラなどの撮像手段で一挙に撮像することとしたので、多サンプルの測定においても迅速

に測定データを得ることができると共に、試薬分注直後に短時間で生じるサンプルからの発光も迅速に測定することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の実施態様の光測定装置の構成図である。

【図2】 本発明の実施態様の光測定装置の自動分注器の構成図である。

【図3】 本発明の実施態様の光測定装置の分注制御装置の構成図である。

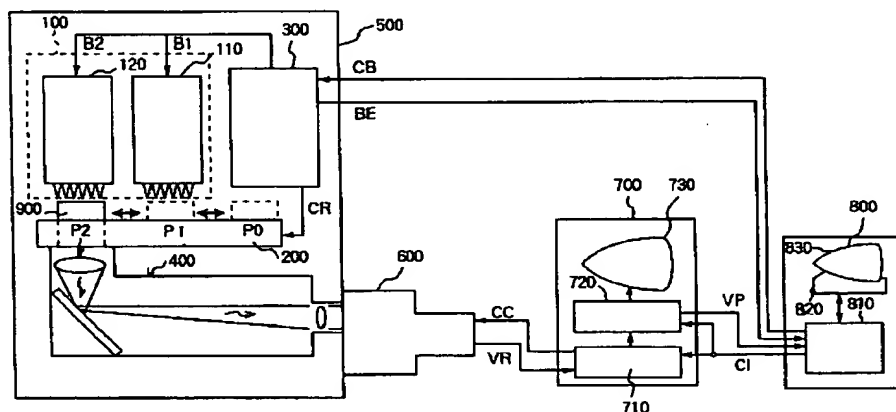
【図4】 従来例1の光測定装置の構成図である。

【図5】 従来例2の光測定装置の構成図である。

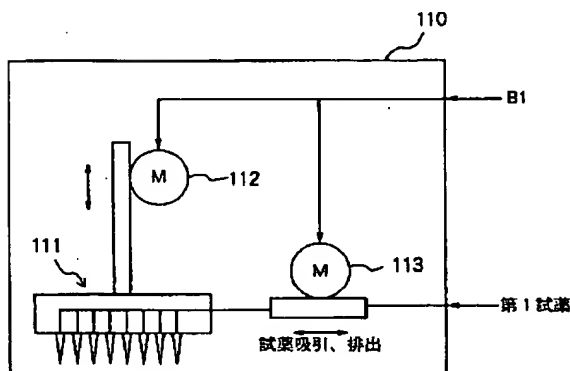
【符号の説明】

100…分注部、110、120…自動分注器、200…搬送装置、300…分注制御装置、400…光学系、500…暗箱、600…ビデオカメラ、700…画像処理装置、800…処理部。

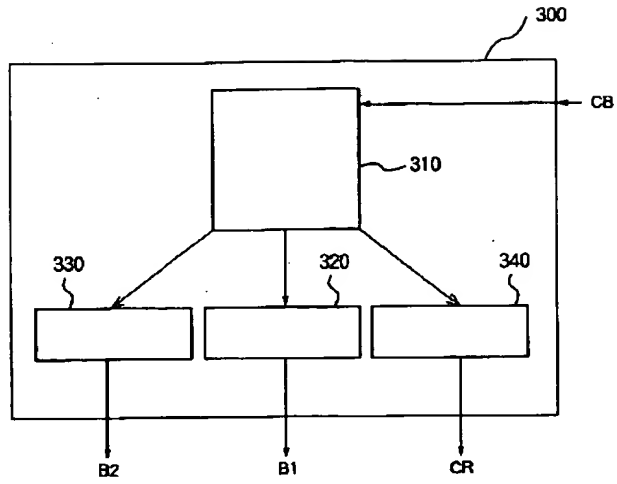
【図1】



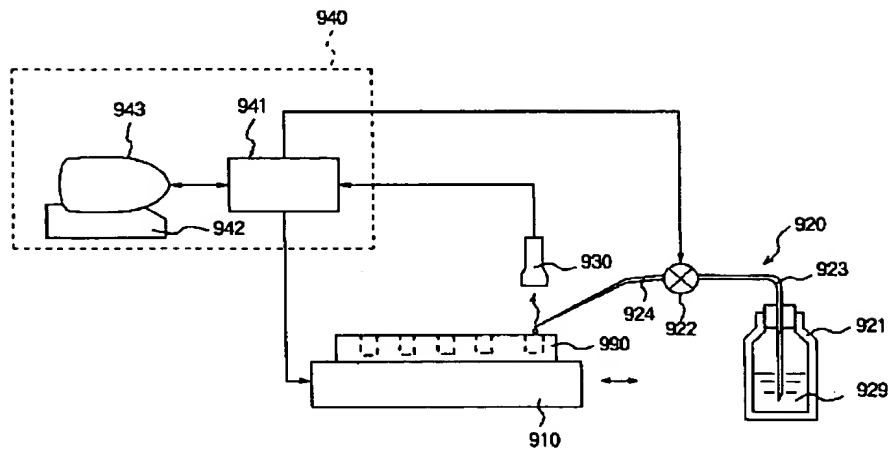
【図2】



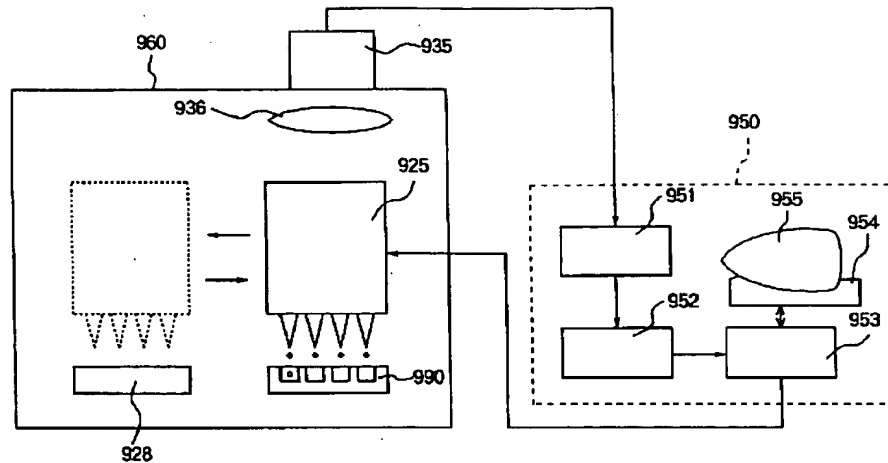
【図 3】



【図 4】



【図 5】



フロントページの続き

(72) 発明者 杉山 浩史
静岡県浜松市市野町1126番地の1 浜松ホ
トニクス株式会社内

(72) 発明者 大橋 祥高
東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株
式会社ニコン内

(72) 発明者 飯田 省己
東京都杉並区荻窪4丁目32番3号-301
株式会社エヌ・ブイ・シー内